A felső endoszkópia és a szerológiai vizsgálatok jelentősége a gyermekkori gyulladásos bélbetegség diagnosztikájában

Doktori tézisek

Dr. Kovács Márta

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Veres Gábor egyetemi docens, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Juhász Márk egyetemi adjunktus, Ph.D.
Dr. Harangi Ferenc főorvos, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Schaff Zsuzsa, az MTA doktora, Akadémikus
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Miheller Pál egyetemi adjunktus, Ph.D.
Dr. Fogarasi András főorvos, Ph.D.

Budapest
2012

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ASCA Saccharomyces cerevisiae elleni antitest

CD Crohn-betegség

CRP C-reaktív protein

ELISA enzyme-linked immunosorbent assay

GAB kehelysejt ellenes antitestek

HUPIR Hungarian Pediatric IBD Registry

Htc hematokrit

IBD gyulladásos bélbetegség

IBD-U nem besorolható IBD

MBL mannóz-kötő lektin

OGD özofago-gasztroduodenoszkópia

PAB exokrin pankreász ellenes antitestek

pANCA perinukleáris antineutrofil citoplazmatikus antitest

PCDAI gyermekkori Crohn-betegség aktivitási index

PLT trombocita

PCR-RFLP polimeráz láncreakció/restrikciós fragmens hossz polimorfizmus vizsgálat

PUCAI gyermekkori kolitisz ulceróza aktivitási index

PSC primer szklerotizáló kolangitisz

rPAB rekombináns pankreász antigén ellenes antitest

rPAg rekombináns pankreász antigén

Se Fe szérum vas szint

UC kolitisz ulceróza

Bevezetés

A gyulladásos bélbetegség (IBD) két fő formája a Crohn-betegség (CD) és a kolitisz ulceróza (UC), melyek diagnózisa a klinikai, endoszkópos, képalkotó, laboratóriumi és szövettani kép együttes eredménye alapján általában egyértelműen felállítható, ugyanakkor a betegség etiológiája máig ismeretlen, multifaktoriálisnak tekinthető. Mai elképzelésünk szerint az IBD genetikailag fogékony egyénekben bizonyos környezeti antigének és a mukózális immunrendszer kóros kölcsönhatása révén alakul ki. Az elmúlt években közölt nemzetközi felmérések alapján az IBD, különösen a CD incidenciája egyre növekszik. Minden negyedik IBD-s beteg gyermekkorban vagy serdülőkorban kerül kórismézésre.

Az irodalmi adatok szerint kezdetben az UC és a CD vastagbélre lokalizált formája az esetek mintegy 15-20%-ában nem különböztethető meg egymástól gyermekekben és 5-15%-ban felnőtt betegekben. A definitív diagnózis felállítását segítheti a **felső endoszkópia**. A 2005-ben publikált „Portói kritériumok” szerint a felső endoszkópiás vizsgálatot minden IBD-re (inflammatory bowel disease, idült gyulladásos bélbetegség) gyanús gyermeknél el kell végezni (kivéve: egyértelműen disztális UC), bár ennek validálása ezideig nem történt meg.

Felnőtt CD-s betegekben 7-8%-ban észleltek felső gasztrointesztinális (terminális ileumig terjedő) érintettséget a betegek kivizsgálása során. A tanulmányok többsége ennél gyakoribb felső gasztrointesztinális érintettségről számol be CD-s gyermekekben, bár felnőttekben is leírtak hasonló előfordulási arányt. Tünetektől függetlenül, rutinszerűen végzett özofago-gasztoduodenoszkópia (OGD) során 40-64%-ban találtak makroszkópos eltérést. Mikroszkópos elváltozást ennél is magasabb arányban, több mint 70%-ban figyeltek meg.

Nincs hazai adat a felső gasztrointesztinális érintettség előfordulási gyakoriságáról gyermekkori IBD-ben. Emellett a nemzetközi irodalomban sem áll rendelkezésre nagy esetszámú prospektív vizsgálat a felső endoszkópia diagnosztikus értékéről („diagnostic yield”).

Gyermekkorban különösen fontos a non-invazív szerológiai markerek kutatása, amelyek megbízható diagnosztikus értékkel bírhatnak. A **mannóz-kötő lektin (MBL)** szolubilis szérum fehérje, a fertőző ágensekkel szemben az első védelmi vonalat jelentő veleszületett immunitás fontos komponense. Az MBL mintázatfelismerő molekula, azaz a

patogénekre jellemző molekuláris mintázat felismerése révén, antitest nélkül képes a komplement rendszer lektin útjának aktiválására. A különböző mikroorganizmusok (baktériumok, vírusok, gombák és protozonok) sejtfelszínén specifikusan előforduló mannóz és N-acetilglükózamin szénhidrát alkotóelemekhez hozzákötődve (direkt opszonizáció) elősegíti azok eliminációját a fagocita sejtek által.

Az MBL elsődlegesen a májban szintetizálódik majd a véráramba szekretálódik. Emellett az MBL2 gén extrahepatikus transzkripcióját is kimutatták a vékonybélben. Továbbá az MBL molekula az apoptotikus és nekrotikus sejtekhez kötődve elősegíti azok eliminációját a makrofágok által. Mostanság az MBL egy új szerepe is felismerésre került, Toll-like-receptor (TLR)-koreceptorként a direkt intracelluláris jelfelismerésben működik közre.

Az átlagpopulációban az MBL deficiencia (<100 ng/ml) előfordulási gyakorisága 8-10 % között van, míg az alacsony MBL szint (<500 ng/ml) prevalenciája a 40%-ot is elérheti. Az MBL deficiencia összefüggést mutat az infekciókkal szembeni fogékonysággal, illetve az infekciók súlyosságával, különösen gyermekekben és immunkomprimált betegekben. Továbbá az MBL hiány szerepet játszhat a különböző autoimmun betegségek (pld. IBD és cöliákia) kialakulásában. Az MBL szerepe IBD-ben egyelőre ellentmondásos.

Az IBD patomechanizmusának kutatása vezetett el a CD-s és UC-s betegek vérében specifikusan jelenlevő antitestek felfedezéséhez. Több antitestet is kimutattak IBD-ben. Leggyakrabban a perinukleáris antineutrofil citoplazmatikus antitesteket (pANCA) és a Saccharomyces cerevisiae elleni antitesteket (ASCA) vizsgálták. Az újabban felfedezett **pankreász (PAB) és kehelysejt ellenes (GAB) antitestekről** még viszonylag kevés adat áll rendelkezésre, klinikai jelentőségük gyermekkori IBD-ben nem pontosan tisztázott.

A korábbi tanulmányok alapján a PAB antitestek előfordulása CD-ben viszonylag alacsony (27-39%). Az exokrin pankreász ellenes antitestek két napjainkban identifikált proteoglikánnal (CUZD1 és GP2) - mint rekombináns célantigénekkel (rekombináns pancreász antigén 1 és 2: rPAg1 és rPAg2) - történő meghatározása egy új módszert jelent az IBD szerológiai diagnózisában.

A GAB autoantitestek jelenlétét 28-30-%-os prevalenciával írták le UC-ben és 20%-ban figyelték meg az IBD-s betegek első fokú rokonaiban. Ezidáig a PAB, rPAB és GAB antitestek vizsgálatáról nem áll rendelkezésre nagyobb esetszámú tanulmány gyermekkori IBD-ben, továbbá a specificitás és szenzitivitás adatok ellentmondásosak felnőttkori IBD-ben.

Célkitűzések

Vizsgálataink során a gyulladásos bélbetegségben szenvedő gyermekekben kívántuk felmérni a felső gasztrointesztinális érintettség előfordulási gyakoriságát és a felső endoszkópia valódi diagnosztikus értékét („diagnostic yield”). Emellett értékeltük az endoszkópos és hisztológiai eltérések valamint az aktivitási indexek és laboratóriumi paraméterek közötti összefüggést. Továbbá vizsgáltuk az IBD-s gyermekek diagnosztikájában szerepet játszható különböző szerológiai markerek (MBL, PAB, rPAB, GAB, ASCA és pANCA) diagnosztikus értékét illetve diagnosztikus alkalmazhatóságát és elemeztük ezek kapcsolatát a fenotípussal, aktivitási index-szel, gyógyszeres kezeléssel, extraintesztinalis tünetekkel valamint a NOD2 mutációkkal. Fontosabb célkitűzéseink a következők voltak:

1.1. Az endoszkópos és hisztológiai léziók, valamint ezek összefüggésének a vizsgálata a betegség aktivitással és a laboratóriumi paraméterekkel a felső endoszkópiával vizsgált IBD-s betegekben.
1.2. A felső endoszkópia valódi diagnosztikus értékének („diagnostic yield”) a meghatározása a releváns makroszkópos eltérések és a granuloma alapján CD-ben.
1.3. A betegséglokalizáció, a betegség aktivitás és a laboratóriumi paraméterek vizsgálata a felső endoszkópiával vizsgált CD-s betegekben.

2.1. Az MBL szintek és az MBL deficiencia előfordulásának a meghatározása, valamint ezek összefüggésének a vizsgálata a szerológiai markerekkel az IBD-s betegekben.
2.2. Az MBL szintek, a klinikai fenotípus, a CRP és az aktuális betegségaktivitás közötti összefüggés vizsgálata IBD-ben.
2.3. Az MBL szintek és a NOD2/CARD15 genotípus közötti összefüggés vizsgálata CD-ben.

3.1. A PAB, rPAB és GAB antitestek diagnosztikus pontosságának és a szerotípus-fenotípus összefüggésnek a kiértékelése.
3.2. Az ASCA és pANCA antitestek diagnosztikus pontosságának és a szerotípus-fenotípus összefüggésnek a kiértékelése.
3.3. NOD2/CARD15 genotípus, a szérum autoantitestek és a fenotípus összefüggésének a vizsgálata CD-ben.

Betegek és módszerek

1. Betegek kiválasztása

1.1. A felső endoszkópia diagnosztikus értékének a meghatározásához

A 2007-2009 közötti időszakban a HUPIR adatbázisa alapján felső endoszkópiát 237 (56%) betegnél [fiú/lány arány:125/112, átlagos életkor: 13,2 év (tartomány: 1,2-18 év)] végeztek, 176 gyermeknél CD, 48 gyermeknél UC és 13 gyermeknél IBD-U volt a diagnózis.

1.2. A mannóz-kötő lektin meghatározáshoz

A vizsgálatba 107 gyermekkori kezdetű CD-s [fiú/lány arány:64/43, átlagos életkor: 14,1 év (tartomány: 5,3-20 év)] és 52 UC-s [fiú/lány arány:22/30, átlagos életkor: 14,0 év (tartomány: 6-19,7 év)] gyermeket vontunk be. A kontroll csoport 95 korban és nemi megoszlásban a betegektől nem különböző gyermekből állt.

1.3. PAB, rPAB, GAB, ASCA és pANCA antitestek meghatározásához

A vizsgálatba 103 gyermekkori kezdetű CD-s [fiú/lány arány:63/40, átlagos életkor:13,9 év (tartomány:5,3-19,6 év)], 49 UC-s [fiú/lány arány:22/27, átlagos életkor:12,5 év (tartomány:6-19,7 év)] beteget vontunk be. A kontroll csoport 104 korban és nemi megoszlásban a betegektől nem különböző gyermekből állt.

1.4. A NOD2/CARD15 mutációk meghatározásához

A vizsgálatba 44 gyermekkori kezdetű CD-s [fiú/lány arány:19/25, átlagos életkor:13,3 év (tartomány:5,3-18 év) beteget vontunk be.

A vérminták levétele prospektíven történt az MBL valamint a PAB, rPAB, GAB, ASCA és pANCA antitestek, a NOD2/CARD15 mutációk, a vérkép és a CRP meghatározásra.

2. Módszerek

2.1. A felső endoszkópia diagnosztikus értékének a meghatározása

A hazai Gyermek IBD Regiszter (HUPIR: Hungarian Pediatric IBD Registry) prospektív adatbázisához 27 gyermekgasztroenterológiai intézmény szolgáltatta az adatokat, biztosítva az országos lefedettséget. A regisztrációhoz a résztvevő intézményekben minden újonnan kórismézett 18 év alatti IBD-ben szenvedő gyermekről egy 76 paraméterre kérdező adatlap kerül kitöltésre. A regisztrált betegek adatait elemeztük a diagnózis, a felső

endoszkópia során észlelt endoszkópos és hisztológiai kép, a képalkotók által kimutatott eltérések, a betegséglokalizáció valamint a betegségaktivitás alapján.

2.2.Mannóz-kötő lektin meghatározás

Az MBL szinteket ELISA technikával határoztuk meg a Minchinton és mtsai által közölt módszert követve. A gyári leírásnak megfelelően az alacsony MBL szintet <500 ng/mL, az MBL deficienciát pedig <100 ng/mL szérum szintnél állapítottuk meg.

2.3. PAB, rPAB, GAB, ASCA és pANCA antitestek meghatározása

A PAB, rPAB, GAB, ASCA és pANCA antitestek meghatározása a kereskedelmi forgalomban elérhető indirekt immunfluroszcens (IIF) módszerrel (EUROIMMUN, Lübeck, Németország) történt a gyári leírásnak megfelelően.

2.4.NOD2/CARD15 mutációk meghatározása

A genetikai vizsgálathoz a DNS-t teljes vérből izolálták. A NOD2/CARD15 gén 3 különböző mutációját (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007fs) polimeráz láncreakció/restrikciós fragmens hossz polimorfizmus vizsgálat segítségével határozták meg. A NOD2/CARD15 variánsokat nagyteljesítményű denaturáló folyadékkromatográfiával detektálták és direkt szekvenálással bizonyították.

3. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéshez Graph Pad Prism 5 programot használtuk (GraphPad, San Diego CA, USA). A betegséglokalizáció szerinti endoszkópos és hisztológiai eltéréseket, az MBL deficiencia és a szérum autoantitestek jelenlétét χ^2-teszt és Fisher-exact-teszt segítségével értékeltük a CD és UC csoportok, valamint az IBD-s betegek alcsoportjai között. A betegség aktivitási indexek és a egyes laboratóriumi paraméterek közötti korrelációt Spearman-féle nonparametrikus teszttel elemeztük. Az aktivitási indexek, a laboratóriumi paraméterek és az életkorra vonatkozó eltérések összehasonlítása az egyes IBD alcsoportok között Mann-Whitney teszttel történt. A $p<0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. Logisztikus regresszió analízist alkalmaztunk a klinikai fenotípus és a szerológiai profil összefüggésének a komplex kiértékeléséhez.

Eredmények

1.1. Endoszkópos és hisztológiai léziók, valamint azok összefüggése a betegség aktivitással és a laboratóriumi paraméterekkel az IBD-s betegekben

2007. január 1.-2009. december 31. között 420 IBD-s beteget regisztráltunk. A CD-s betegek száma jelentősen meghaladta az UC-ben szenvedő betegek számát 265 (63%) vs. 130 (31%, p<0,0001). Az összes IBD-s beteg 54%-a volt fiú és 46%-a lány. Az átlagéletkor 13,2 évnek bizonyult (tartomány: 1,2-18 év). Felső endoszkópiát 237 (56%) betegnél végeztek (112 lány, 125 fiú, átlagéletkor: 13,25 év, tartomány: 1,2-18 év).

Makroszkópos léziót 64%-ban figyeltünk meg CD-ben és 40%-ban UC-ben (CD vs. UC p=0,003). Hisztológiai eltérés 71%-ban fordult elő CD-ben és 48%-ban UC-ben (CD vs. UC p=0,0035). Az össz granuloma 19%-át (12/62) a felső gasztrointesztinális traktusban mutattuk ki és 13%-uk (8/62) csak izoláltan itt volt kimutatható.

Vizsgálatunk adatai alapján a C-reaktív protein (CRP) és trombocita (PLT) érték szignifikánsan magasabb [p(CRP)=0,022, p(PLT)=0,034], a szérum vas (se Fe) érték pedig szignifikánsan alacsonyabb volt (p=0,0296) a makroszkópos eltérést mutató CD-s betegekben a makroszkópos eltérést nem mutatókhoz viszonyítva.

1.2. A felső endoszkópia diagnosztikus értékének a vizsgálata

A felső endoszkópia valamennyi makroszkópos és/vagy hisztológiai eltérést figyelembe véve összesen 141 CD-s betegben (80%) mutatott eltérést. Szűkebb értelemben, csak a CD-re jellemző endoszkópos képet (erózió, ulkusz, afta, utcakőrajzolat) és a granuloma jelenlétét vizsgálva az OGD 55 CD-s betegben (31%) nyújtott tényleges diagnosztikus segítséget. Azonban a CD-s betegek többségében (65%) ileum (izolált ileum vagy ileokolikus) érintettséget tudtunk igazolni. Amikor a fenti eltéréseket csak azon izolált kolitiszes (L2) CD-s gyermekek alcsoportjában értékeltük, akikben nem tudtunk kolon granulomát igazolni, az OGD 16 (9%) CD-s betegben segítette a végső diagnózis megalapozását. Fenti kritériumok alapján az OGD diagnosztikus értékét („diagnostic yield”) 9%-nak (16/176) találtuk CD-ben. A makroszkópos és mikroszkópos eltérések UC-ben aspecifikusak voltak és nem segítették a diagnózis felállítását.

1.3. A betegséglokalizáció, a betegség aktivitás és a laboratóriumi paraméterek vizsgálata a felső endoszkópiával vizsgált CD-s betegekben

Összesen 143 CD-s gyermekeknél volt lehetőség a montreáli kritériumok alapján megállapított betegségkiterjedést vizsgálni. Az összes CD-s beteget figyelembe véve 42%-ban, a felső gasztrointesztinális érintettséget mutató betegcsoporton belül 80%-ban, tehát a betegek több mint háromnegyedében a felső gasztrointestinális rendszer mellett a vékony- és vastagbél is érintett volt, ún „panentericus” fenotípus (L3+L4) volt megfigyelhető. A fiatalabb korcsoportokban (8 év alatt, illetve 8-14 év között) az L3+L4 érintettséget magasabbnak találtuk, mint a 14 év feletti betegeknél, bár a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns. Izolált felső gasztrointesztinális érintettséget egy betegnél sem tudtunk igazolni.

Felső gasztrointesztinális elváltozások esetén 85 CD-s betegnél állt rendelkezésre aktivitási index. E betegek többségénél mérsékelt vagy súlyos betegségaktivitást észleltünk. Az átlag PCDAI értéket CD-s betegekben 33,0 (tartomány: 7,5-67,5) pontnak találtuk. Nem láttunk statisztikailag szignifikáns különbséget a felső gasztrointesztinális érintettséget mutató, illetve nem mutató CD-s betegek átlag aktivitási index értékében. A lokalizáció és betegségaktivitás összefüggését vizsgálva a felső gasztrointesztinális érintettséget mutató csoporton belül (n=41) viszont magasabbnak észleltük az átlag aktivitási index értékeket L3+L4 lokalizáció esetén. Ez az eltérés azonban nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet.

A PCDAI érték pozitívan korrelált a CRP (n=103, R: 0.46, p<0,0001), a Htc (R: 0.34, p<0,0001), a PLT (R: 0.37, p=0,0001) és az alacsony se Fe (R:-0.26, p=0,0092) szinttel CD-ben. Azonban a PUCAI érték nem mutatott szignifikáns összefüggést ezekkel a paraméterekkel (CRP, Htc, PLT, se Fe) UC-ben.

2.1. Az MBL szintek és az MBL deficiencia előfordulása az IBD-s betegekben, valamint ezek összefüggése a szerológiai markerekkel

Alacsony MBL szintet (< 500ng/ml) 107-ből 34 (31,8%) CD-s, 52-ből 18 (34,6%) UC-s és 95-ből 13 (13,7%) kontroll gyermekben találtunk. MBL deficienciát (< 100 ng/ml) 10 (9,4%) CD-s, 6 (11,5%) UC-s és 9 (9,5%) kontroll gyermekben észleltünk. Szignifikánsan alacsonyabb átlag MBL szinteket észleltünk mind a CD-s, mind az UC-s betegekben a kontrollokhoz képest (CD, p=0,04, UC, p=0,004, IBD, p=0,007). Továbbá az alacsony szérum MBL szint (< 500 ng/ml) előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt mind a CD-s, mind az UC-s betegekben, mint a kontroll csoportban (CD, p=0,002, UC, p=0,006, IBD, p=0,001). Az MBL deficiencia előfordulásában (< 100 ng/ml) azonban nem találtunk különbséget az IBD-s

és a kontroll csoport között. Nem észleltünk szignifikáns különbséget az MBL deficiencia és az alacsony MBL szint prevalenciájában, illetve az átlag MBL szintekben a CD-s és UC-s betegek között. Ezenfelül nem találtunk szignifikáns kapcsolatot az alacsony MBL szint vagy az MBL deficiencia és az ASCA illetve a pANCA antitestek között sem CD-ben, sem UC-ben.

2.2. Az MBL szintek, a klinikai fenotípus, a CRP és az aktuális betegségaktivitás közötti összefüggés IBD-ben

CD-ben az alacsony MBL szint (< 500 ng/ml) összefüggést mutatott az izolált teminális ileum érintettséggel (p=0,01), az MBL deficiencia (< 100 ng/ml) pedig a fiú nemmel (p=0,004). A szérum MBL szint és az MBL deficiencia nem mutatott kapcsolatot a gyógyszeres kezeléssel, a sebészi beavatkozás szükségességével vagy az extraintesztinális manifesztációkkal sem CD-ben, sem UC-ben. Továbbá az MBL szint nem mutatott összefüggést a CRP-vel és az aktuális PCDAI értékkel CD-ben, illetve a CRP-vel és a PUCAI értékkel UC-ben. Viszont a CRP pozitívan korrellált a PCDAI értékkel CD-ben (n=86, R: 0.617, p<0,0001), ellenben nem mutatott szignifikáns összefüggést a PUCAI értékkel UC-ben.

2.3. Az MBL szintek és a NOD2/CARD15 genotípus közötti összefüggés vizsgálata CD-ben

A NOD2/CARD15 genotípus 44 CD-s betegnél volt ismert. Nem észleltünk összefüggést az MBL deficiencia és a NOD2 variánsok között. A NOD2/CARD15 mutációk előfordulása statisztikailag nem különbözött a magas (> 500 ng/ml, 20,6%) vagy az alacsony (< 500 ng/ml, 33,3%) MBL szinttel rendelkező CD-s betegek között.

3.1. A PAB, rPAB és GAB antitestek diagnosztikus pontossága és összefüggésük az IBD fenotípusával

A PAB és rPAB antitestek (IgA vagy IgG) jelenléte szignifikánsan magasabb volt CD-ben (34% és 35,9%) és UC-ben (20,4% és 24,5%) a kontrollokhoz képest (0%, 0%, p<0,0001). A PAB és/vagy ASCA/pANCA kombinált alkalmazása fokozta a szerológiai markerek szenzitivitását CD-ben (87,4%) és UC-ben (79,6%) is. A specificitás 89,3% és 93,2% volt retrospektíven. A pozitív prediktív értéket (PPV) 89,1%-nak a negatív prediktív értéket (NPV) pedig 87,6%-nak találtuk CD-ben a kombinált markerek alkalmazása esetén (UC, PPV: 93,2%, NPV: 82,2%).

A GAB antitestek előfordulását szignifikánsan magasabbnak észleltük UC-ben a CD-s és kontroll csoporthoz viszonyítva (UC: 12,2%, CD: 1,9%, kontroll: 1,9%, p<0,02).

Nem tudtunk összefüggést kimutatni a PAB, rPAB és GAB antitestek jelenléte valamint a klinikai tünetek, a gyógyszeres kezelés vagy a sebészi terápia szükségessége között sem CD-ben, sem UC-ben. A PAB és rPAB pozitivitás ugyan magasabb volt ileokolikus (60% és 59,4%) és kolon (28,6% és 27%) érintettség esetén, mint az izolált ileális betegségben (11,4% és 13,5%) CD-ben, de a különbség nem érte el a szignifikancia határát.

3.2. Az ASCA és pANCA antitestek diagnosztikus pontossága és összefüggésük az IBD fenotípusával

Az ASCA antitestek jelenléte szignifikánsan magasabb volt CD-ben (72,8%), mint az UC-s (26,5%) és kontroll gyermekekben (4,85%). Az ASCA pozitivitás összefüggést mutatott a szövődményes betegséggel [sztenotizáló (p=0,02) és/vagy penetráló viselkedés (p=0,0003)] valamint a perianális érintettséggel (p=0,01) CD-ben. Nem tudtunk kapcsolatot igazolni az ASCA antitestek jelenléte és a CD lokalizációja, a gyógyszeres kezelés, a sebészi beavatkozás szükségessége és az extraintesztinális manifesztációk között. Az ASCA antitest válaszok száma (0,1 vagy 2) pozitív összefüggést mutatott a sztenotizáló (B2), a penetráló (B3) és perianális betegség, valamint az ileokolikus érintettség (L3) előfordulási gyakoriságával, míg inverz korrelációt a tisztán gyulladásos (B1) betegséggel.

ASCA pozitivitást 13 UC-s betegben (26,5%) detektáltunk, közülük 7 betegnél primer szklerotizáló kolangitisz (PSC) állt fenn.

A pANCA antitestek előfordulása 77,5% volt UC-ben és 33% CD-ben. A pANCA jelenléte nem mutatott kapcsolatot az IBD fenotípusával, a gyógyszeres kezeléssel vagy az extraintesztinális tünetekkel sem CD-ben, sem UC-ben.

3.3. NOD2/CARD15 genotípus, a szérum autoantitestek és a fenotípus összefüggése CD-ben

A NOD2/CARD15 genotípus 43 CD-s betegben volt ismert. A NOD2/CARD15 gén mutációit 13 (30,2%) CD-s betegben lehetett kimutatni. Nem tudtunk összefüggést kimutatni a vizsgált antitestek jelenléte és a NOD2/CARD15 variánsok között. A NOD2 gén mutációi összefüggést mutattak a szteroid refrakter betegséggel (p=0,048) és az infliximab kezeléssel (p=0,035) CD-ben. Ugyanakkor a CD-s gyermekekben nem találtunk kapcsolatot a NOD2 variánsok és a betegség kórismézéskori életkora és a CD fenotípusa között.

Következtetések

1. Vizsgálataink alapján a felső gasztrointesztinális érintettség gyakori előfordulása igazolható a CD-s és UC-s gyermekekben, de az UC-ben megfigyelt eltérések aspecifikusak. A felső endoszkópia (fekély, erózió, afta, granulóma) a CD-s betegek harmadában segíti a diagnózis felállítását. Ez az arány tovább csökken, amennyiben a terminális ileum érintettséggel járó eseteket nem vesszük figyelembe, hiszen ekkor a felső endoszkópiának nincs diagnosztikus „hozama". Döntő szerepet ennél kisebb arányban, minden tizedik Crohn-beteg gyermeknél játszik („diagnostic yield"). Ezen izolált kolitiszes esetekben a felső endoszkópiánál látott szerpiginózus fekélyek és aftózus léziók, valamint a granuloma hisztológiai jelenléte CD definitív diagnózisát jelenthetik. Emiatt a gyermekkori IBD diagnosztikus algoritmusában felső endoszkópia elvégzése ajánlott.

2. A CD-s gyermekek csaknem felében a felső gasztrointestinális rendszer mellett a vékony- és vastagbél is érintett, ún „panentericus" fenotípus (L3+L4) figyelhető meg. Ez az adat azt mutatja, hogy a CD-s gyermekekben gyakori a kiterjedt (extenzív) betegséglokalizáció, mely a terápia megválasztását és a betegség prognózisát is befolyásolhatja.

3. A CRP és trombocita érték szignifikánsan magasabb, a szérum vas érték pedig szignifikánsan alacsonyabb a felső gasztrointesztinális makroszkópos eltérést mutató CD-s betegekben a makroszkópos eltérést nem mutatókhoz viszonyítva. Vizsgálataink igazolják, hogy a laboratóriumi értékek szoros összefüggést mutatnak az endoszkópos képpel CD-ben és fenti laboratóriumi eltérések fennállása esetén nagyobb valószínűséggel lehet jelen makroszkópos patológia a felső gasztrointesztinális traktusban a CD-s gyermekekben.

4. Az MBL szérumkoncentrációk szignifikánsan alacsonyabbak és az alacsony MBL szinttel (< 500 ng/ml) rendelkezők aránya is nagyobb az IBD-s gyermekekben a kontrollokhoz képest, CD-ben és UC-ben egyaránt. CD-ben az alacsony MBL szint prevalenciája (< 500 ng/ml) szignifikánsan gyakoribb izolált teminális ileum érintettség esetén az egyéb lokalizációkhoz képest. Eredményeink felvetik annak a lehetőségét, hogy az alacsony MBL szint összefüggést mutat a gyermekkorban manifesztálódó IBD-vel és az izolált terminális ileum érintettséggel CD-ben, továbbá mint járulékos tényező szerepet játszhat a gyermekkori IBD patogenezisében.

5. A PAB, rPAB és GAB antitestek specifikusak ugyan IBD-re, de szenzitivitásuk alacsony, a klinikai fenotípussal pedig nem mutatnak kapcsolatot. A vizsgálatok alacsony

szenzitivitása azt jelzi, hogy ezen markerek külön-külön nem használhatók az IBD diagnosztikájában. Az antitestek kombinált alkalmazása (PAB és/vagy ASCA/pANCA) a szenzitivitást fokozza, ami lehetővé teszi, hogy válogatott esetekben, differenciáldiagnosztikai probléma esetén kiegészítő diagnosztikus vizsgálatként kerüljenek alkalmazásra.

6. Munkánk során azt találtuk, hogy az ASCA antitestek jelenléte összefüggést mutat a szövődményes (sztenotizáló és penetráló) betegség lefolyással valamint a perianális betegséggel CD-ben. Fenti adataink is alátámasztják, hogy az ASCA pozitivitás a szövődményes, agresszívebb lefolyású CD markere lehet.

7. A NOD2/CARD15 mutációk jelenléte szignifikáns kapcsolatot mutatott az agresszív terápia (a szteroid refrakter betegség és az infliximab kezelés) szükségességével CD-ben. Ezen adatok alapján a NOD2 variánsoknak a kezelésre adott válasz előrejelzésében lehet klinikai szerepe.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Tulassay Tivadar Professzor úrnak, az I. Sz. Gyermekklinika igazgatójának, hogy engedélyezte és lehetővé tette PhD dolgozatom megírását.

Köszönöm Prof. Dr. Arató Andrásnak, hogy tudományos munkámat nyomon követte és segítette.

Hálával és köszönettel tartozom témavezetőmnek Dr. Veres Gábornak, aki szakmai és tudományos munkám minden mozzanatát messzemenően segítette és támogatta.

Nagyon sok hasznos segítséget kaptam Dr. Papp Máriától és Dr. Lakatos Pétertől. Köszönetemet fejezem ki szakmai tanácsaikért és bíztatásukért.

Köszönöm Dr. Ruszinkó Viktóriának, hogy tudományos törekvéseimet mindig támogatta.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Rácz Istvánnak, akitől a klinikai és a tudományos munka területén is sokat tanultam.

Köszönetemet fejezem ki mindazon munkatársaknak, akik a szérum minták összegyűjtésében és a laboratóriumi munkákban részt vettek valamint Dr. Müller Katalin Eszternek az IBD regiszter vezetéséért és az ország 27 IBD-vel foglakozó egészségügyi centrumában dolgozóknak az IBD regiszterhez nyújtott adatokért.

Hálásan köszönöm Édesanyámnak, Édesapámnak, Férjemnek, Gyermekeimnek Kristófnak és Sárának a biztos hátteret, a rengeteg áldozatot és segítséget.

Saját publikációk jegyzéke

Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. **Kovacs M**, Muller KE, Arato A, Lakatos PL, Kovacs BJ, Varkonyi A, Solyom E, Polgar M, Nemes E, Guthy I, Tokodi I, Toth G, Horvath A, Tarnok A, Tomsits E, Csoszánszky N, Balogh M, Vass N, Bodi P, Dezsofi A, Gardos L, Micskey E, Papp M, Szucs G, Cseh A, Molnar K, Szabo D, Veres G on behalf of the Hungarian IBD Registry Group (HUPIR). Diagnostic yield of upper endoscopy in paediatric patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. Subanalysis of the HUPIR registry**.** J Crohns Colitis 2012;6:86-94. DOI:10.1016/j.crohns. 2011.07.008. **IF: 2,628**

2. **Kovács M**, Papp M, Lakatos PL, Jacobsen S, Nemes E, Polgár M, Solyom E, Bodi P, Horvath A, Molnar K, Szabo D, Cseh A, Muller KE, Dezsofi a, Arato A, Veres G. Low mannose-binding lectin (MBL) is associated with paediatric inflammatory bowel diseases and ileal involvement in patients with Crohn disease. J Crohns Colitis 2012 Apr 13. [Epub ahead of print] DOI:10.1016/j.crohns.2012.03.008. **IF: 2,628**

3. Kovács M, Lakatos PL, Papp M, Jacobsen S, Nemes E, Polgár M, Solyom E, Bodi P, Horvath A, Molnar K, Szabo D, Cseh A, Muller KE, Dezsofi a, Arato A, Veres G. Pancreatic autoantibodies and autoantibodies against goblet cells in pediatric patients with inflammatory bowel disease (IBD). J Pediatr Gastroenterol Nutr 2012 Mar 29. [Epub ahead of print] DOI:10.1097/MPG.0b013e318256b516. **IF: 2,180**

4. **Kovács M**, Müller KE, a Magyar Gyermek IBD regiszter résztvevői, Veres G. A felső endoszkópia jelentősége a gyermekkori gyulladásos bélbetegségben (IBD) szenvedő gyermekekben. Gyermekgyógyászat 2010;61:25-31.

5. **Kovács M**. A gyermekkori gyulladásos bélbetegség klinikuma és laboratóriumi diagnosztikája. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle 2010;15(4):160-164.

6. **Várkonyi I, Kovács M (megosztott első szerzők)**, Nyitrai A, Kis É. A képalkotó diagnosztika és az endoszkópia jelentősége gyermekkori gyulladásos bélbetegségben. Gyermekgyógyászat 2011;62:3-9.

7. **Kovács M,** Veres G, Arató A. Diagnosztikus nehézségek Crohn-betegségben. Gyermekgyógyászat 2012;62:28-32.

Más témában megjelent közlemények

1. **Kovács M.** Az obesitas prevenciója kisdedkorban. Gyermekgyógyászat 2011;62:257-260.

2**. Kovács M**, Ruszinkó V, Szőnyi L, Verebély T. Wilson-kór képében jelentkező, cholestasist okozó vena portae cavernosum. Gyermekgyógyászat, 2004;55:591-593.

3. **Kovács M**, Ruszinkó V, Davidovics S, Oláh A, Rácz I. Kapszulás endoszkópia alkalmazása gyermekeknél. Gyermekgyógyászat 2006;57:358-364.

4. **Kovács M**, Davidovics S, Gyűrűs P, Rácz I. Sürgősségi kapszulás endoszkópiával diagnosztizált Meckel-diverticulum vérzés Orvosi Hetilap 2006;147:2003-2006.

5. **Kovács M,** Kelemen Á, Rácz I. Felső gasztrointesztinális vérzés gyermekkorban Gyermekgyógyászat 2007;58:335-339.

6. **Kovács M**, Szabó M, Balogh L, Dezsőfi A, Tóth- Heyn P, Rudas G, Balázs Gy, Várkonyi I, Bröring D, Szőnyi L. Élődonor májtranszplantáció neonatalis haemochromatosisban. Gyermekgyógyászat 2007;58:345-349.

7. **Kovács M,** Veres G, Szőnyi L, Dezsőfi A, Bodánszky H, Illyés Gy,Schaff Zs, Arató A. Viscerális myopathia következtében kialakult chronicus intestinalis pseudoobstructio. Orvosi Hetilap 2007;28:1329-1334.

8. **Kovács M,** Reusz Gy, Szabó A, Dezsőfi A, Győrűs P, Jánoki M, Rácz I. Endoszkópos vizsgálatokkal észlelt vascularis malformációk Klippel-Trenaunay-szindrómában. LAM 2007;17:419.

9. **Kovács M,** Alexy M, Kováts-Szabó E, Anghelyi A, Vaszari Zs, Halmen M, Bessenyei B, Bognár L. Apert-szindróma hátterében igazolt FGFR2 génmutáció. Gyermekgyógyászat 2008;59:104-108.

10. Ruszinkó V, **Kovács M**, Szőnyi L, Verebély T, Willner P. Cavernous transformation of the portal vein causing jaundice, presenting in form of Wilson's disease. Acta Chir Belg 2004;104:457-458. **IF:0,42**

11. Fücsek M, **Kovács M,** Jobbágyi P. Krónikus gombás pansinusitis akut exacerbatioja következtében kialakult orbitaphlegmone gyermekkorban. Orvosi Hetilap 2002;143:1207-1210.

12. Veres G és **a Magyar Gyermek IBD-regiszter részvevői**. A magyarországi gyermekkori gyulladásos bélbetegségek (IBD) regiszterének első éves (2007) elemzése. Gyermekgyógyászat 2008;59:282-287.

13. Anghelyi A, Niederland T, **Kovács M**, Ruszinkó V, Kovács L. Congenitalis bronchiectasia, Williams- Campbell-szindróma? Tüdőgyógyászat 2008;2:24-27.

14. Müller KE, **a Magyar Gyermek IBD Regiszter részvevői**, Veres G. Az extraintesztinális manifesztáció gyakorisága a gyulladásos bélbetegségben szenvedő gyermeknél a Magyar Gyermek IBD Regiszter 2008-as adatai alapján. Gyermekgyógyászat 2010;61:15-21.

15. Veres G, Szabó D, Várkonyi Á, Tari B, Polgár M, B Kovács J, Horváth Á, Tomsits E, Tokodi I, Dezsőfi A, Szakos E, Vass N, Ruszinkó V, **Kovács M**, Müller KE, Arató A. Crohn-beteg gyermekek infliximabkezelésének kezdeti tapasztalatai hazánkban. Orvosi Hetilap 2010;151:79-183.

Az értekezés témájához kapcsolódó idézhető idegen nyelvű absztraktok

1. **M. Kovács,** É. Nemes, M. Polgár, E. Sólyom, Á Horváth, P. Bódi, S. Jacobsen, K. Molnár, K.E. Müller, Á Cseh, A. Dezsőfi, A. Arató, G. Veres. Antibodies against Saccharomyces cerevisiae are associated with penetrating disease behavior and perianal disease, but pancreatic autoantibodies are not related to clinical presentation, medical therapy, and need for surgery in pediatric-onset IBD. ESPGHAN, JPGN,2011,52, Suppl.2, E153

2. **Kovács M**, HUPIR, Veres G. What is the real significance of upper gastrointestinal endoscopy in pediatric patients with inflammatory bowel disease (IBD)? Annual meeting of ESPGHAN, JPGN, 2010, Suppl, PO-G-234,p:167.

3. Veres G, Papp M, Lakatos PL, Jacobsen S, Nemes E, Polgár M, Solyom E, Bodi P, Horvath A, Molnar K, Szabo D, Cseh A, Muller KE, Dezsofi a, Arato A, **Kovács M.** Low mannose-binding lectin (MBL) is associated with paediatric inflammatory bowel diseases and ileal involvement in patients with Crohn disease. Annual meeting of ESPGHAN, JPGN, 2012, Suppl, PO-G-037,p:38.

Más témában idézhető idegen nyelvű absztraktok

1. **Kovács M**, Ruszinkó V, Davidovics S, Oláh A, Rácz I. Applications of capsule endoscopy in pediatric patients Z. Gastroenterol 2006;44:5. A64

2. **Kovács M**, Kelemen Á, Rácz I. Upper gastrointestinal bleeding in childhood. Z. Gastroenterol 2007;44:433. A47

3. **Kovács M**, Szőnyi L, Dezsőfi A, Davidovics S, Rácz I. Bile duct diseases in infancy and children Z. Gastroenterol 2008;46:499. A46

4. Müller KE, **HUPIR**, Veres G. Correlation of IBD activity indexes and extraintestinal manifestation of 264 newly diagnosed patients with IBD. Annual meeting of ESPGHAN, JPGN, 2010, Suppl, PO-G-237,p:168.

5. Veres G, **HUPIR** Study Group, Papp M, Lakatos P. Prevalence of extraintestinal manifestation in inflammatory bowel disease according th the Hungarian Pediatric IBD Rergistry (HUPIR). JCC, 2010;1(4):S107.

6. Veres G, Papp M, Lakatos PL, **Hungarian IBD Registry Group (HUPIR**). First 2-year analysis of prospectively diagnosed patients with IBD in the Hungarian IBD Registry (HUPIR). J Pediatr Gastroenterol Nutr 2009; 48(Suppl 3): PG2-22.

7. Veres G, Papp M, Lakatos P, and **Hungarian Pediatric IBD Registry Group.** Characteristics of patients prospectively recruited in the Hungarian Pediatric IBD Registry (HUPIR). JCC, 2009;3:S110-111.

8. Veres G, **Hungarian Pediatric IBD Registry Group**. First year (2007) analysis of the Hungarian pediatric inflammatory bowel disease registry (HUPIR). Z Gastroenterol 2008;44:420.